食品アレルギー物質迅速検出キット

FASTKIT イムノクロマト そば　＜取扱説明書＞

開発の経緯および特徴

食品衛生法関連法規の改定により食物アレルギーを誘発する可能性が高いとされた特定原材料５品目（卵・乳・小麦・そば・落花生）について、平成 14 年４月から表示が義務付けられました。正しく表示を行うためには製造記録による確認と検査による特定原材料の混入の確認が重要となっています。

本品は､イムノクロマト法 による食品中のそばタンパク質の検出キットで､簡単な操作で短時間に結果が得られます。

〔特徴〕

1）食品中の多種のそばタンパク質を同時に検出できます。
2）原料から加工食品まで幅広く適用可能です。
3）１ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
4）迅速（１５分）に結果が得られます。

キットの内容

A：テストプレート……………………………………………………………………………20 テスト
B：希釈用緩衝液 ……………………………………………………………………………50mL×１本
C：濃縮抽出用緩衝液（10 倍濃縮液） …………………………………………………100mL×１本

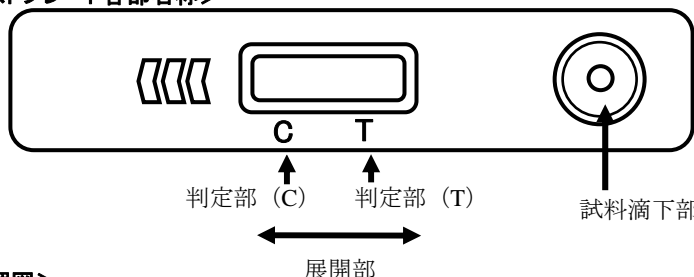
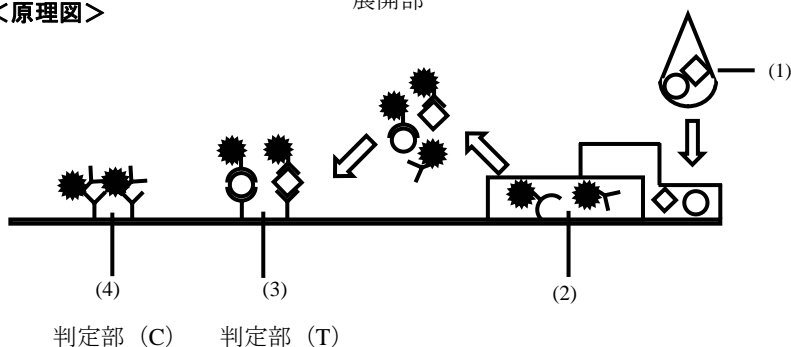
目的・性能

1）食品中に含まれるそばタンパク質の検出。
2）最小検出感度は食品中濃度で数 ppm（「FASTKIT エライザそば」測定値から算出）*。

検出原理

テストプレートの試料滴下部に試料溶液を滴下すると金コロイド標識ウサギ抗そば抗体(図中(2))が溶解し、試料溶液中のそばタンパク質(図中(1))と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、判定部（T）に固定化された抗そば抗体(図中(3))に捕捉され、判定部（T）に金コロイドによる赤紫色のラインを形成します。本キットはこの赤紫色のラインを目視で確認し、試料溶液中のそばタンパク質の存在の有無を判定します。

一方、試料溶液中のそばタンパク質の存在の有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、判定部（C）に固定化された抗ウサギ免疫グロブリン抗体(図中(4))に捕捉され、判定部（C）に金コロイドによる赤紫色のラインを形成します。判定部(C)における赤紫色のラインにより試料溶液が正常に展開部を移動したことを確認します。

＜テストプレート各部名称＞

操作法 1（試料溶液の調製）

〔必要な機器〕

- 粉砕器（フードカッター）、ホモジナイザー（ミルサー）
- 遠心分離機（3,000×*g* 以上、4℃での遠心可能なものを推奨）、遠沈管、ろ紙、漏斗、メスシリンダー、ビーカー
- マイクロピペット（10～1000μL 分取可能なもの）

〔試薬の調製〕

1）希釈用緩衝液および濃縮抽出用緩衝液は室温に戻して使用してください。

2）濃縮抽出用緩衝液は、精製水を用いて 10 倍希釈して使用してください。

注 1）　濃縮抽出用緩衝液中に沈殿が認められる場合には、室温に戻し沈殿を溶解させた後精製水にて希釈してください。

注 2）　希釈用緩衝液および濃縮抽出用緩衝液は、FASTKIT イムノクロマトシリーズですべて同一組成のため、キットの種類を問わずに使用できます。

〔試料溶液の調製例〕

最適なそばタンパク質の抽出条件は食品によりそれぞれ異なりますので、食品ごとに条件を検討する必要があります。

以下に一般的な抽出操作例を示しますので必要に応じて検討を加えてください。

1）被検食品（検体）を一包装単位ごとに粉砕器、フードカッター等により均一な状態に破砕またはペーストとします。

2）この試料 2g に対して予め調製した抽出用緩衝液 38mL を加え、ホモジナイザー等で 30～60 秒間ずつ 3 回抽出操作を繰り返します。

3）上記の試料を 3,000×*g* 以上で 4℃,20 分間遠心分離します。

4）上清をろ紙でろ過します。

5）ろ液を希釈用緩衝液で 10 倍希釈して試料溶液とします。

<操作スキーム例>

被検食品
｜←フードカッター等により均一に破砕
調製試料　2g
｜←抽出用緩衝液 38mL を混和
｜　ホモジナイザー等により抽出
抽出液
｜← 3,000×*g* にて 4℃,20 分間遠心分離
遠心上清
｜←ろ紙を使用してろ過
ろ液
｜←希釈用緩衝液で 10 倍希釈
試料溶液

試料溶液を調製する際はそば成分のコンタミネーションを完全に防止する必要があります。よく洗浄した器具またはディスポーザブルの器具を使用してください。粉砕器やホモジナイザー等も検体ごとに確実に洗浄してください（中性洗剤で洗浄後アルカリ洗剤に一晩浸け置き、または 30 分間の超音波洗浄を推奨します）。

注1）　抽出液は中性（pH6.0～8.0）となるよう調整してください。また、ある種の食品においてそばタンパク質が抽出されにくい場合があります。検体を均一にして念入りに抽出操作を行ってください。

注2）　試料溶液に脂肪等の不溶物が多く含まれる場合は正しい結果が得られないことがあるため、脂肪等の不溶物を除去するために遠心条件等を検討してください（例：10,000×g 以上で 4℃,30 分間）。

注3）　調製したホモジナイズ後の抽出液は 4℃保存し、なるべく早く試験してください。抽出液および試料溶液の凍結融解は避けてください。

操作法 2（テストプレートの操作手順）

注意：　イムノクロマトテストプレートは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻して、使用する直前にアルミパウチ袋から取り出すこと。

〔試薬の操作手順〕

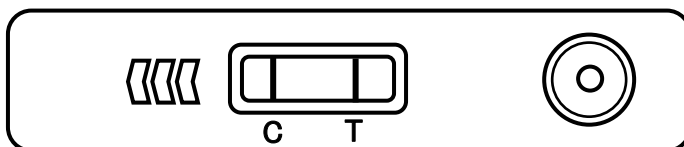
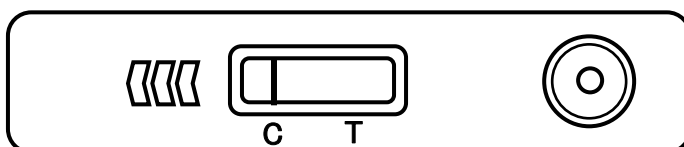
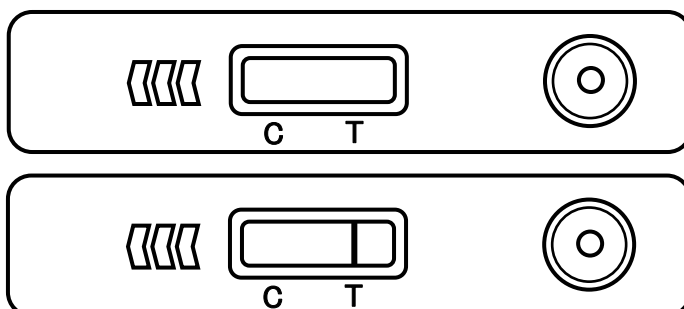
テストプレートはアルミパウチ袋に入れたまま室温に戻して使用直前にアルミパウチ袋から取り出し使用してください。また、テストプレートの試料滴下部および判定部には直接手などで触れないでください。

操作法 1（試料溶液の調製）に準じて調製した試料溶液を充分に攪拌した後、テストプレートの試料滴下部にマイクロピペットを用いて 100μL 滴下し、水平な台に静置し、15 分経過後、目視で判定します。

注 1）　マイクロピペットのチップは必ずテストごとに交換してください。

〔結果の判定〕

注意： 試験開始後 15 分の結果を判定結果とすること。また、赤紫色のラインの濃淡に関わらずラインが観察された場合には陽性と判定すること。

陽性： 判定部（T）および判定部（C）共に赤紫色のラインが観察される場合は陽性とします。
赤紫色のラインの濃淡に応じて、弱陽性を＋w、陽性を＋、強陽性を＋＋とします。

陰性： 判定部（T）に赤紫色のラインが観察されず、判定部（C）のみに赤紫色のラインが観察される場合は陰性（－）とします。

判定保留（再試験）： 判定部（T）および判定部（C）共に赤紫色のラインが観察されない場合、または判定部（T）のみに赤紫色のラインが観察される場合は再試験とします。

交差反応・非特異反応・偽陰性

1） そば以外の特定原材料（卵、乳、小麦、落花生）との交差反応性は認められません。
2） タニソバ、ナタネ、マカダミアナッツ、アーモンド、カシューナッツ、さやとうがらし、クコの実、うるち米、もち米、キウイのタンパク質とは交差反応性を有するため、偽陽性を示す可能性があります*。
3） 粘性の高い食品*や非常に高濃度のタンパク質の存在下では非特異的な反応が起こる可能性があります。この場合、適当な濃度に希釈して試験を行ってください。
4） 容器包装詰加圧加熱殺菌食品あるいは食肉製品、鯨肉製品の缶詰及びレトルトパウチ製品、焼き菓子では、偽陰性を示す可能性があります。

ＦＡＳＴＫＩＴエライザそばと本品の相関性*

全体一致率 241／249 検体 （96.8%）		FASTKIT エライザそば				合計
		10ppm 以上	5～10ppm	1～5ppm	陰性	
本品	陽性	10	2	2	4	18
	陰性	1	1	2	227	231
合計		11	3	4	231	249 検体

1）FASTKIT エライザそばにより 1ppm 以上を示した検体を陽性としました。
2）食品中成分の影響により検出感度が異なります。

使用上または取扱い上の注意

〔一般的な注意事項〕

1）この取扱説明書をよく読み、記載された操作法に従って使用してください。
2）使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限は箱およびテストプレートアルミ袋に記載されています。
3）本キットは食品中から特定原材料を検出するための試薬であり、食物アレルギー発症の有無を診断する試薬ではありません。本キットによる検出結果とアレルギー症状の発症との相関性については確認されていません。
4）特定原材料の有無については本キットの結果だけでなく、原材料や製造記録の確認等、他の方法と併せて総合的に判断してください。
5）本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各検査手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
6）商品の仕様について予告なく変更になる場合があります。

〔危険防止上の注意事項〕

1）本キットの試薬類は、皮膚や粘膜、衣類等に付けないでください。
2）誤って試薬が目や口に入った場合には、直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い医師の手当てを受けてください。

貯蔵法・使用期限

〔保存方法〕

冷蔵（２～８℃)、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。

〔使用期限〕

アルミ袋未開封にて製造日より 12 ヶ月。箱およびテストプレートアルミ袋に有効期限を表示してあります。

〔関連文献〕

1）厚生労働省「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(食発第 1106001 号)
2）丸井英二：食品衛生研究, Vol.52(5),p25-31,2002
3）穐山浩, 豊田正武：食品衛生研究,Vol.52(6),p65-73,2002

※ 本キットは､ベクトン･ディッキンソン アンド カンパニーが持つイムノクロマト法の基礎技術を応用し、日本ハム株式会社のそばタンパク質を認識する抗体を用いて開発されたそばタンパク質迅速検出キットです。

〔販売元および問い合わせ先〕

外箱側面に記載

〔製造元〕

〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社　中央研究所
電話：029(847)7825／FAX：029(847)7824
URL：http://www.rdc.nipponham.co.jp